

CESK SLOVENSKA  
S CIALISTICKA  
R E P U B L I K A



ÚRAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

169007

Int. CL<sup>2</sup>  
C 12 B 1/14,  
(C 12 B 1/14, 3/14)

Přihlášeno 18. V. 1973 (PV 3584-73)

Zveřejněno 15. IX. 1975

Vydáno 15. V. 1977

MDT  
570.6.077.3:615.37

Autor vynálezu

Ing. LADISLAV HÁNA, CSc., RNDr. PAVOL VEBER, ing. JÁN LEŠKO, CSc.,  
a RNDr. VLADIMÍR VEBER, BRATISLAVA

**Způsob přípravy práškovaných sér, sérových frakcí bílkovin  
a kompletních médií pro tkáňové kultury s obsahem sér, nebo jejich  
frakcí bílkovin sušením rozprašovacím způsobem**

1

Vynález se týká způsobu přípravy práškovaných sér, sérových frakcí bílkovin a kompletních médií pro tkáňové kultury s obsahem sér nebo jejich frakcí bílkovin — růstových faktorů — sušením rozprašovacím způsobem.

Doposud používaná séra pro tkáňové kultury se připravují a jsou dodávána nejčastěji jako tekutiny a méně často jako lyofilizované preparáty. Komerčně dodávané sérové frakce bílkovin (růstové faktory) a média na kultivaci tkáňových kultur s přídavkem růstových proteinů z telecích sér (například médium TM SEVAC III a IV) se získávají lyofilizací tekutého koncentrátu kompletního média.

Nevýhodou tekutých sér a sérových frakcí bílkovin a též kompletních médií je krátká trvanlivost a tím i ztížená skladovatelnost. Lyofilizované sterilní preparáty s delší expirační dobou se dodávají ve velkých skleněných nádobách, které jsou plněny jen z nepatrné části vysušeným sérem, anebo jeho bílkovinnými frakcemi nebo kompletním médiem s růstovými proteiny. S tím souvisí u obou druhů (tekutých sér i lyofilizovaných preparátů) jak zvýšení nárku na skladovací prostor, tak i zdražení přepravy. Navíc u tekutých sér je pro jejich dlouhodobé skladování nutno preparáty zmrazit

2

a přechovávat nejméně při teplotě  $-20^{\circ}\text{C}$ . V ČSSR se připravují séra pro tkáňové kultury, bílkovinné frakce ze séra a též kompletní média s uvedenými složkami. Jsou to především telecí séra normální a inaktivovaná, telecí sérum novorozenec (normální a inaktivované), koňské sérum (normální a inaktivované), růstové proteiny z telecích sér a kompletní média s obsahem růstových sérových bílkovin telecích sér (TM SEVAC III a TM SEVAC IV). Obdobně jsou dodávána sérá, popřípadě bílkovinné frakce sér, anebo kompletní média s jejich obsahem různými zahraničními firmami (Disco, Gibco, Flow laboratories, Pentex, KABI aj.).

Podstatou vynálezu je příprava práškovaných sér pro tkáňové kultury, sérových frakcí a kompletních médií pro tkáňové kultury se sérem, anebo bílkovinnými frakcemi sér sušením z tekutého stavu v rozprašovací sušárně. Základním principem je mžilkové rozprašování tekutých sér, sérových frakcí bílkovin a kompletních koncentrovaných médií se sérem, anebo sérovými frakcemi bílkovin, pr. tkáňové kultury na jemnou mlhu, která přichází do styku s proudem teplého vzduchu v rozmezí 20 až  $100^{\circ}\text{C}$ .

Sušící proces probíhá v lni rychle a nedochází k přehřátí. Přeměna roztoků na su-

chý prášek probíhá v jediném pracovním pochodu. Práškovaná séra, sérové frakce, anebo kompletní média pro tkáňové kultury (média — sérum), získaná výše popsaným postupem, jsou velmi dobře rozpustná ve vodě a zachovávají si všechny růstové vlastnosti pro kultivaci buněk. Práškovaná séra pro kultivaci buněk, sérové frakce, kompletní média odstraňují skladovací těžkosti, dále usnadňují balení pro transport a snižují náklady při přepravě (nepřepravuje se voda). Rovněž trvanlivost preparátů, jež jsou předmětem vynálezu, je mnohonásobně delší, pokud jsou uchovávány bez přístupu vlhkosti při pokojové teplotě, anebo při teplotách nižších. Navíc se snižují nároky na skladovací prostor. Oproti práškovaným sérum vyrobeným sušením za mrazu (lyofilizací) má navrhovaný pracovní postup na přípravu práškovaných preparátů, jež jsou předmětem vynálezu, nižší výrobní náklady při zachování stejné kvality výrobků. Podstatnou výhodou proti lyofilizaci je rychlosť sušení a snížení spotřeby energie.

Účelem vynálezu je příprava kvalitních práškových sér pro kultivaci tkáňové kultury, sérových frakcí a kompletních médií (média + různá množství séra, popřípadě sérových bílkovinných frakcí), jež mají proti doposud dodávaným sérum a kompletním médiím výhody v prodloužení trvanlivosti preparátu (není nutnost skladování sér při  $-20^{\circ}\text{C}$ ), v úspore obalového materiálu při transportu a ve snížených náročích na skladovací prostor. U preparátů připravených způsobem podle vynálezu jsou zachovány růstové vlastnosti pro kultivaci buňky. Současně lze připravit velké šarže stejných růstových vlastností, což je výhodné z důvodů standardizace, přičemž se skýtá možnost mechanizace a automatizace celého výrobního procesu.

Tímto způsobem sušení lze připravit i sterilní práškovaná séra, sérové frakce, kompletní média, použíjeti se sterilních složek preparátu, jež jsou předmětem vynálezu, určených pro sušení. Sterilní práškované preparáty jsou připravovány ve zvláštních sušárnách, které jsou vybaveny vhodným doplňkovým zařízením pro sterilizaci sušicího prostoru a zařízení na aseptické rozplňování práškovaných preparátů. Taková zařízení dodává například firma NIRO-Atomizer — Dánsko.

Práškovaná séra pro kultivaci buněk, sérové frakce bílkovin se doposud v ČSSR vyráběla sušením za mrazu (lyofilizací). Ten-

to způsob výroby produktů je pracnější a náročnější na spotřebu energie nežli způsob výroby práškovaných preparátů navrhovaný vynálezem, vyznačující se mžikovým rozpřášením séra, sérových frakcí bílkovin, kompletních médií na jemnou mlhu, které přicházejí do styku s proudem teplého vzduchu, který rychle vysuší mikrokapky tekutého séra, sérové frakce bílkovin, anebo kompletní média na jmený prášek bez lokálního přehřátí a skýtá tak produkt dobrě rozpustný ve vodě při zachování růstových vlastností pro kultivaci buněk, s prodloužením trvanlivosti výrobků při současném zlepšení manipulace při přepravě a snížení nároků na skladování.

#### Příklad 1

Čiré živočišné sérum (telecí, koňské aj., normální nebo inaktivované, fetální anebo novorozenec) se naleje do zásobní nádrže v rozprašovací sušárně. Do sušicího prostoru se začne vhánět vzduch ohřátý na  $80^{\circ}\text{C}$  a uvede se do činnosti rozprašovací zařízení. Mikrokapky séra jsou mžikově vysušeny a proudem vzduchu se dopravují do zásobníků, který je temperován na nižší teplotu, odkud se vysušené sérum odebírá k dalšímu použití.

#### Příklad 2

Růstové proteiny z telecích sér, připravené metodou podle Michla (Michl J., Svozobodová J.: Elufluence of the Growth-Promoting 2 — globulin ou ion entraence into HeLa cells Biochim. biophys. acto 97 168/1965 b), se zpracují stejným způsobem, jak uvedeno v příkladu 1.

#### Příklad 3

900 ml Eglova média se smíchá se 100 ml telecích sér (inaktivovaného) a dále se sníž postupem popsaným v příkladu 1.

Obdobně je možno připravovat různá kompletní média (například Minimální esenciální médium podle Egla, Medium M 199, Médium podle Leibovitze L 15 atd.) s přidavkem různého množství séra anebo bílkovinných frakcí séra. Po dobrém promíchání se suší dále, jak uvedeno v příkladu 1.

Práškované preparáty séra, sérových frakcí nebo kompletních médií získané uvedeným způsobem jsou dobrě rozpustné ve vodě a zachovávají si všechny růstové vlastnosti pro kultivované buňky.

#### PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy práškovaných sér, sérových frakcí bílkovin a kompletních médií pro tkáňové kultury s obsahem sér nebo jejich frakcí bílkovin sušením rozprašovacím způsobem, vyznačený tím, že se na živočiš-

né, telecí, koňské, fetální anebo novorozenec, tekuté sérum působí v rozprašovací sušárně proudem vzduchu ohřátého na  $80^{\circ}\text{Celsia}$ .

TITLE: Preservation of sera, protein fractions, and tissue cultures media by spray drying

INVENTOR(S): Hana, Ladislav; Veber, Pavol; Lesko, Jan; Veber, Vladimir

PATENT ASSIGNEE(S): Czech.

SOURCE: Czech., 2 pp.

DOCUMENT TYPE: Patent

LANGUAGE: Czech

FAMILY ACC. NUM. COUNT: 1

PATENT INFORMATION:

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
CS 169007	B	19760629	CS 1973-3584	19730518

Mammalian BiochemistryFAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
PI CS 169007	B	19760629	CS 1973-3584	19730518

Spray drying of human and animal serum, serum proteins, and Eagle's min. essential medium in a fine mist at 80.degree preserved the biol. properties of the materials and was cheaper than freeze drying blood serum preservation spray drying; protein serum preservation spray drying; culture medium preservation spray drying

TITLE: Preservation of sera, protein fractions, and tissue cultures media by spray drying  
INVENTOR(S): Hana, Ladislav; Veber, Pavol; Lesko, Jan; Veber, Vladimir  
PATENT ASSIGNEE(S): Czech.  
SOURCE: Czech., 2 pp.

DOCUMENT TYPE: Patent

LANGUAGE: Czech

FAMILY ACC. NUM. COUNT: 1

PATENT INFORMATION:

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
------------	------	------	-----------------	------

CS 169007	B	19760629	CS 1973-3584	19730518
-----------	---	----------	--------------	----------

Spray drying of human and animal serum, serum proteins, and Eagle's min. essential medium in a fine mist at 80.degree preserved the biol. properties of the materials and was cheaper than freeze drying.  
1978:118718 CAPLUS

Preservation of sera, protein fractions, and tissue cultures media by spray drying

Hana, Ladislav; Veber, Pavol; Lesko, Jan; Veber Vladimir

Czech.

Czech., 2 pp.

Patent

Czech

C12B001-14

Mammalian BiochemistryFAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
------------	------	------	-----------------	------

PI CS 169007	B	19760629	CS 1973-3584	19730518
--------------	---	----------	--------------	----------

Spray drying of human and animal serum, serum proteins, and Eagle's min. essential medium in a fine mist at 80.degree preserved the biol. properties of the materials and was cheaper than freeze drying blood serum preservation spray drying; protein serum preservation spray drying; culture medium preservation spray drying

Proteins

BIOL (Biological study)

(blood-serum, preservation of, by spray drying )

Blood preservation and preservatives (by spray drying )

Animal tissue culture medium for, preservation of, by spray drying )

Drying spray, blood serum and protein and tissue culture medium preservation  
by)